

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA



**O PAPEL DE *CANDIDA SPP.* NO DESENVOLVIMENTO DE DOENÇA NOS TECIDOS
PERIODONTAIS E PERI-IMPLANTARES**

Sofia Raquel Nunes Messias

Dissertação, orientada pelo

Dr. Paulo Mascarenhas

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2011

Agradecimentos

À minha mãe, minha inspiração.

Aos meus avós, minha motivação.

À minha família.

Ao Dr. Paulo Mascarenhas, pela disponibilidade, paciência, apoio e profissionalismo.

Após seis longos anos de curso
Termina agora algo que muito queria
Tive de fazer escolhas neste percurso
Nem sempre como mais gostaria
A todos aqueles que almejaram a minha presença
Mas devido à faculdade me ausentei
Digo-vos que vocês fazem a diferença
Neste patamar que alcancei.

Resumo

Existem vários microorganismos residentes na cavidade oral, constituindo a microbiota. Entre eles encontramos os fungos, que são de ocorrência comum na cavidade oral e cuja espécie predominante é a *Candida albicans*. Esta estabelece uma relação comensal com o hospedeiro, tornando-se patogénica quando o sistema imune está deprimido, ou por algumas patologias sistémicas, ou por alguns tratamentos (quimioterapia e radioterapia, por exemplo), ou toma de fármacos.

Esta dissertação avalia a importância da presença de *Candida spp.* na microflora periodontal e peri-implantar. Analisa e identifica as características destes fungos, os seus factores de virulência e as características do paciente predisponentes à disseminação fúngica.

Nesta medida, apesar de algumas evidências científicas da presença de espécies de *Candida* em bolsas periodontais e peri-implantares, efectua-se considerações que clarifiquem a sua importância clínica no desenvolvimento de doença periodontal e peri-implantite.

Palavras-chave:

Candida spp.

Candida albicans

Fungos

Doença Periodontal

Peri-implantite

Abstract

Varied species of resident microorganisms exist in the oral cavity, setting up the microflora. Among them we found yeasts, that are commonly found occurrence in the healthy subjects oral cavity and *Candida albicans* is the predominant species. It establishes a commensal relation with the host, becoming pathogenical when the immune system is depressed or due to some systemic diseases or treatments or medicines intake.

This literature review aims to assess the importance of the presence of *Candida spp.* at periodontal and implant microflora. Other goals for this review is to analyze the characteristics of this yeasts, their virulence factors and the risk factors of patient that leads to yeasts dissemination.

To that extent, besides some scientific evidence of presence of *Candida spp.* at periodontal and peri-implants sites, considerations are exposed to clarify its clinical importance for the development of periodontal disease and peri-implantitis.

Key words:

Candida spp.

Candida albicans

Yeasts

Periodontal disease

Peri-implantitis

Índice

Resumo	i
Palavras-chave	i
Abstract.....	ii
Key words.....	ii
Abreviaturas.....	iv
1. Introdução	1
2. Metodologia.....	3
3. <i>Candida spp.</i>	4
3.1. Características morfológicas da <i>Candida albicans</i>	4
3.2. A parede celular da <i>Candida albicans</i> : composição, estrutura e funções biológicas	5
4. Mecanismos de patogenicidade da <i>Candida albicans</i>	6
4.1. Adaptação às condições ambientais	6
4.2. Adesão a superfícies	7
4.3. Produção de enzimas hidrolíticas	9
4.4. Transição morfológica.....	9
4.5. Formação de biofilme.....	10
4.6. Evasão e imunomodulação das defesas do hospedeiro	11
5. Factores de risco para o desenvolvimento de <i>Candida spp.</i> na mucosa oral.....	13
5.1. Factores de risco locais.....	13
5.2. Factores de risco sistémicos	14
6. O papel de <i>Candida spp.</i> no desenvolvimento da doença periodontal	17
7. O papel da <i>Candida spp.</i> no desenvolvimento da peri-implantite.....	21
8. Discussão	23
9. Conclusão	27
Referências Bibliográficas.....	28
Apêndices/Anexos	34

Abreviaturas

<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	<i>Aa</i>
Espécies do género <i>Candida</i>	<i>Candida spp.</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>C.albicans</i>
<i>Candida dubliniensis</i>	<i>C.dubliniensis</i>
<i>Candida famata</i>	<i>C.famata</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
<i>Candida guilliermondii</i>	<i>C.guilliermondii</i>
<i>Candida kefyr</i>	<i>C.kefyr</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>C.krusei</i>
<i>Candida lusitaniae</i>	<i>C.lusitaniae</i>
<i>Candida magnoliae</i>	<i>C.magnoliae</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
<i>Candida pseudotropicalis</i>	<i>C.pseudotropicalis</i>
<i>Candida sake</i>	<i>C.sake</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
<i>Candida zeylanoides</i>	<i>C.zeylanoides</i>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Pg</i>
<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>S.sanguis</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>S.mutans</i>
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>S.gordonii</i>
Imunoglobulina A1	IgA1
Imunoglobulina A2	IgA2
Imunoglobulina G1	IgG1
Leucócitos polimorfonucleares	PMN

Potencial hidrogénico	pH
Protease aspartil secretada	SAP
Proteínas da parede celular ligadas covalentemente	CWPs
Síndrome da imunodeficiência adquirida	SIDA
Titânio	Ti
Vírus da Imunodeficiência Humana	VIH

1.Introdução

A periodontite é uma doença que afecta os tecidos de suporte dentários. Provoca uma destruição nos tecidos de inserção (ligamento periodontal, cimento radicular e osso alveolar), resultando na formação de bolsas periodontais e, eventualmente na perda dentária (Canabarro e cols., 2009).

Apesar das bactérias gram-negativas terem supostamente um papel fundamental na patogénese das doenças periodontais, não existe um agente etiológico único. Acredita-se que as periodontites resultam da interacção entre uma microbiota complexa, o ambiente subgingival e a susceptibilidade do hospedeiro (Lindhe e cols., 2005). Bactérias gram-positivas, organismos anaeróbios e facultativos, além de vírus e fungos, também têm sido associados à periodontite. Nesta doença, os microorganismos, organizados em biofilme aderido a uma superfície dentária, libertam um grande número de mediadores inflamatórios nos tecidos periodontais adjacentes. Estes mediadores químicos promovem uma inflamação que, em muitos casos, resulta na destruição do periodonto (Canabarro e cols., 2009).

As várias espécies de microorganismos residentes na cavidade oral constituem a microbiota. Entre elas encontramos os fungos, que são de ocorrência comum na cavidade oral de indivíduos saudáveis. A *Candida albicans* é a espécie predominante e pode causar infecções oportunistas, sendo o seu desenvolvimento principalmente relacionado com factores predisponentes locais e/ou sistémicos. As infecções devidas às espécies de *Candida* são as infecções fúngicas mais comuns (Jorge e cols., 1997).

Os fungos não são meros participantes passivos no processo de infecção, e um conjunto de factores de virulência da *C.albicans* tem sido proposto e suportado por vários estudos. Estes atributos incluem a produção de enzimas hidrolíticas, capacidade de adesão a superfícies, formação de biofilme, capacidade de mudança entre diferentes fenótipos celulares, adesão a substratos inertes e biológicos e imuno-modulação dos mecanismos de defesa do hospedeiro (Chaffin e cols., 1998).

O género *Candida* inclui cerca de 150 espécies de fungos. Sete dessas espécies (*C.albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida kefyr*, *Candida glabrata* e *Candida guilliermondii*) estão reconhecidas como patogéneos

medicamente importantes. A *C.albicans* é o fungo mais prevalente isolado do corpo humano como comensal ou como patogéneo oportunista. As restantes *Candida spp.* são usualmente consideradas como oportunistas (Cannon e cols., 1995).

A presença de *C.albicans* na cavidade oral não é indicativa de doença. Em muitos indivíduos, este fungo é um componente minor da sua flora oral e não estão associados a qualquer sintoma (Cannon, Chaffin, 1999).

Na boca, os fungos geralmente colonizam a língua, o palato e a mucosa, mas também podem ser encontrados em bolsas periodontais. Especialmente a espécie *Candida* pode ser encontrada em grande número (7 a 57,8% das bolsas periodontais) em pacientes com periodontite crónica, o que sugere que este microorganismo possa estar envolvido na patogénese da doença periodontal, apesar de alguns estudos terem encontrado fungos tanto em bolsas periodontais como em locais saudáveis (Canabarro e cols., 2009).

Por estes motivos, esta dissertação pretende clarificar a contribuição dos fungos, em particular da *C.albicans*, para o desenvolvimento de doença nos tecidos periodontais e peri-implantares, o seu papel na susceptibilidade do hospedeiro e que características lhe permitem esse contributo.

2. Metodologia

Procedeu-se a pesquisa nas bases de dados Pubmed e B-On, no período compreendido entre Outubro de 2010 e Abril de 2011. Com os seguintes termos: “*yeasts*”, “*fungi*”, “*Candida spp.*” “*Candida albicans*”, “*periodontal disease*” e “*peri-implantitis*”. Foram também utilizados livros científicos.

3. *Candida spp.*

Sabe-se que a *Candida* é um fungo comensal que habita inofensivamente vários nichos do corpo humano, como a cavidade oral, tracto gastrointestinal, órgãos genitais e pele. Contudo, sob determinadas circunstâncias, este fungo pode causar infecção (candidíase), podendo a sua gravidade variar entre infecção dos tecidos mucosos e patologias sistémicas (Seneviratne e cols., 2008).

As espécies de *Candida* que frequentemente são encontradas na cavidade oral são: *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.pseudotropicalis*, *C.dubliniensis*, *C.guilliermondii*, *C.sake*, *C.lusitaniae*, *C.zeylanoides*, *C.magnoliae*, *C.famata* e *C.kefyr*. Todas as espécies apresentam características e factores de virulência próprios (produção de enzimas, adesinas e proteínas). De todas as espécies, a *C.albicans* é a mais frequentemente identificada na cavidade oral (Cannon, Chaffin, 1999; Haynes, 2001; Urzúa e cols., 2007).

3.1. Características morfológicas da *Candida albicans*

A *C.albicans* pode reproduzir-se por gemulação, a qual resulta na formação de células de levedura (também chamadas de blastosporos ou blastoconidia). A produção de tubos germinativos a partir dos blastoporos resulta na conversão para hifa (crescimento filamentoso), cuja formação ocorre em menos de uma hora a 37°C. A formação de pseudo-hifas ocorre pela divisão celular polarizada quando as células de levedura crescem por gemulação e alongam-se sem se separarem das células adjacentes (ver anexos, figura 1). A *C.albicans* pode também, sob certas condições, formar clamidosporos, os quais são esporos redondos com uma parede celular espessa. Estas transições morfológicas representam uma resposta do fungo à mudança das condições ambientais e permitem-lhe adaptar-se a diferentes locais (Chaffin e cols., 1998).

As ultra-estruturas, composição e propriedades biológicas da parede celular são afectadas por estas mudanças morfológicas. Embora algum progresso tenha sido feito nos últimos anos, os mecanismos moleculares destas conversões estão ainda por perceber, particularmente devido à dificuldade de se efectuarem manipulações genéticas nos fungos (Chaffin e cols., 1998).

As células fúngicas têm um núcleo definido encerrado numa membrana nuclear. A sua membrana celular contém lípidos (incluindo esteróis) e glicoproteínas. Também apresentam mitocôndrias, complexo de golgi, ribossomas, retículo endoplasmático e uma parede celular (Chaffin e cols., 1998).

3.2. A parede celular da *Candida albicans*: composição, estrutura e funções biológicas

A parede celular da *C.albicans* é uma estrutura, dinâmica e complexa, com várias camadas, localizada externamente à membrana plasmática (López-Ribot e cols., 2004). Aproximadamente 80 a 90% desta parede é composta por carboidratos, os quais são basicamente representados por três polissacarídeos maiores: polímeros ramificados de glucose contendo ligações β -1,3 e β -1,6 (β -glucano) (20 a 40% do peso seco da parede), polímeros não ramificados de N-acetil-glucosamina contendo ligações β -1,4 (quitina) (1-2%), e polímeros de manose associados covalentemente com proteínas (manoproteínas) (35 a 40 %) (ver anexos, figura 2). Contém também proteínas (6 a 25%) e quantidades menores de lípidos (1 a 7%).

A parede celular funciona como uma barreira de permeabilidade e é a estrutura que mantém a forma do fungo. Como parte externa da célula, a parede medeia a interacção física inicial entre o microorganismo e o ambiente, incluindo o hospedeiro (Chaffin e cols., 1998). Assim, tem um papel essencial em praticamente todos os aspectos da biologia e patogenicidade da *C.albicans* (Siqueira, Sen 2004). As glicoproteínas e manoproteínas da parede celular vão ser responsáveis por grande parte da resposta imune do hospedeiro, induzindo neste uma forte resposta humoral em que haverá produção de anticorpos (López-Ribot e cols., 2004).

4. Mecanismos de patogenicidade da *Candida albicans*

Os fungos de *Candida spp.* possuem factores de virulência que desempenham um papel na etiologia da doença. Os mecanismos envolvidos na patogénese são: 1) capacidade de adaptação às condições ambientais, 2) capacidade de adesão a superfícies, 3) capacidade de produção de enzimas hidrolíticas, 4) transição morfológica, 5) formação de biofilme, 6) evasão e imunomodulação das defesas do hospedeiro (Siqueira, Sen, 2004).

4.1. Adaptação às condições ambientais

Candida spp., e particularmente a *C.albicans*, são patogéneos versáteis. Para além de possuírem a capacidade de sobreviver como comensais, em diversos locais do corpo (como o tracto intestinal, a boca ou os órgãos genitais), cada qual com específicas condições ambientais. Também se adaptam a extremos fisiológicos, tais como o pH, o que lhes permite sobreviver e crescer quer em pH neutro, presente no sangue e na maior parte dos tecidos, quer em pH ácido, como acontece nos órgãos genitais. Esta característica é atribuída à mudança de expressão genética regida pelas mudanças ambientais (Siqueira, Sen, 2004). A superfície celular da *C.albicans* tem receptores que iniciam cascatas de transdução de sinal o que resulta numa actividade alterada de factores de transcrição, ocorrendo a mudança de expressão genética (Haynes, 2001). Em pH neutro, o organismo expressa o PHR1, um gene cuja função está associada com a síntese da parede celular e cuja expressão é óptima em torno na neutralidade, enquanto que em situações de pH ácido o PHR1 é substituído por um segundo gene regulado pelo pH (PHR2), que proporciona uma função similar mas num pH ácido (Calderone, Fonzi, 2001).

Candida spp. também se podem adaptar a condições adversas de concentração de oxigénio e aporte de nutrientes. Podem assim crescer, quer em ambientes aeróbios, quer em anaeróbios, desenvolvendo mecanismos adaptativos para sobreviver em ambas as condições. Apesar disto, Rosa e colaboradores (2008), relataram que a secreção de proteases aspartil secretadas (SAPs) aumentou consistentemente em culturas de cadeias de *C.albicans*, quando as cadeias recolhidas de bolsas periodontais cresceram sob condições anaeróbias. O que sugere que a concentração de oxigénio do ambiente envolvente das células influencia as propriedades de virulência da *C.albicans*.

A presença de grandes quantidades de carboidratos na cavidade oral influencia os factores de virulência de *Candida spp.*. A incubação em sucrose, glucose, frutose ou maltose promove a adesão da *C.albicans*, *C.tropicalis* e *C.krusei* às células epiteliais, aumenta a produção de ácido e baixa o pH, com consequente activação das proteases acídicas e fosfolipases extracelulares – factores envolvidos na adesão fúngica (Sardi e cols., 2010).

Foi também relatado que na estrutura tridimensional do biofilme existe uma variedade de proteínas da parede celular ligadas covalentemente (CWPs), as quais desempenham um papel directo na resposta às condições de *stress*. A análise de transcrição genómica e em menor extensão da análise do proteoma da parede mostrou que a resposta da *C.albicans* a certas formas de *stress* frequentemente inclui mudanças drásticas nos níveis destas CWPs, o que confirma que estas proteínas desempenham um papel crucial na virulência e a sua expressão é muito bem controlada (Sardi e cols., 2010).

A temperatura também influencia o seu crescimento, sendo as temperaturas no hospedeiro de 37°C promotoras do crescimento de hifas (Akpan, Morgan, 2002).

4.2. Adesão a superfícies

A adesão é um pré-requisito para a colonização e um passo essencial para o estabelecimento de infecção. A cavidade oral apresenta várias superfícies de adesão para a *C.albicans*, nomeadamente polímeros inertes de próteses dentárias, dentes, células epiteliais e outros microorganismos (Cannon, Chaffin, 1999). Adere também a células endoteliais, matriz extracelular e materiais inertes implantados no corpo do hospedeiro. As interacções físicas deste fungo com o hospedeiro são mediadas na sua superfície celular, e os constituintes da parede celular implicados nesta ligação são designados adesinas. O largo reportório de adesinas exibido poderá reflectir a variedade de locais do hospedeiro que a *C.albicans* pode invadir (Chaffin e cols.,1998).

A adesão de *Candida spp.* às paredes das células epiteliais, um importante passo do início da infecção, é promovido por certos componentes da parede celular fúngica tais como a manose, os receptores C3d, as manoproteínas e as sacarinas. O grau de hidrofobicidade e a capacidade de se ligar à fibronectina do hospedeiro também foram reportados como importantes nos níveis iniciais da infecção (Akpan, Morgan, 2002).

Demonstrou-se que a *C.albicans* tem a capacidade de co-agregação com certas bactérias orais, como o *Actinomyces*. Esta co-agregação possivelmente envolve uma proteína da superfície da *Candida* que interage com carboidratos ou moléculas que contêm carboidratos na superfície do *Actinomyces* (Siqueira, Sen 2004). *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum* e *Eubacterium sulci* também se co-agregam com todas as cadeias de *C.albicans* testadas. Esta co-agregação também ocorre com cadeias de *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus anginosus*. A existência destas interações causa um aumento significativo da formação total de placa *in vitro* (Siqueira, Sen, 2004).

A co-aderência da *C.albicans* com bactérias orais é específica de cada espécie. Este fungo reconhece receptores específicos em certas bactérias orais (Cannon, Chaffin, 1999), co-aderindo com *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* e espécies de *Actinomyces*. Contudo, as condições de crescimento das bactérias poderão afectar esta co-aderência. A *C.albicans* liga-se em maior número a peças acrílicas revestidas com *S.sanguis*, *S.mutans* ou *Streptococcus sobrinus* do que a acrílico não revestido. As interações proteína-proteína e lectina têm sido propostas para estas interações adesivas entre *Candida spp.* e bactérias, embora as interações hidrofóbicas e electrostáticas possam também fazer parte do processo adesivo. Moléculas de carboidratos e proteínas, que actuam como receptores na *C.albicans* foram identificados na superfície do *S.gordonii*. Num estudo *in vitro* relatou-se que um carboidrato contendo ramnose, glucose, GlcNAc e galactose isolado da parede celular das células de *S.gordonii* actuava como receptor para a aderência da *C.albicans* (Cannon, Chaffin, 1999).

Tem sido sugerido que a associação inicial inter-espécies é seguida de uma forte interação adesão-receptor, mediada por uma manoproteína na *C.albicans*. As proteínas hidrofóbicas na matriz polissacarídea da parede celular da *C.albicans* contribuem para a força desta adesão-receptor aumentando a patogenicidade do fungo. De facto, a hidrofobicidade tem sido correlacionada com uma virulência aumentada nas *Candida spp.* porque as células hidrofóbicas são mais aderentes às células do hospedeiro e substratos, incluindo mucina e proteínas da matriz extracelular (Sardi e cols., 2010). Estas interações entre espécies poderão ser importantes na colonização microbiana contributiva para a progressão de doenças orais (Sardi e cols., 2010) pois podem favorecer a sobrevivência em

comunidades microbianas mistas e podem ter um importante papel na colonização da mucosa oral e tecidos duros (Siqueira, Sen, 2004).

4.3. Enzimas hidrolíticas

A *C.albicans* produz enzimas hidrolíticas que poderão estar envolvidas nos danos aos tecidos peri-radulares (Siqueira, Sen, 2004). Estas enzimas, secretadas extracelularmente por este microorganismo (Sardi e cols., 2010), são as proteases aspartil secretadas (SAPs), collagenases, aminopeptidases, glucosaminidases, fosfatases ácidas e alcalinas, hialuronidase e sulfatase de condroitina. (Siqueira, Sen, 2004). Além destas ainda existem também as quitinases, as esterases e as fosfolipases (López-Ribot, 2004).

Embora os seus papéis na patogénese não tenham sido completamente elucidados, sabe-se que as fosfolipases facilitam a aderência aos tecidos, para além de degradarem os fosfolípidos presentes na membrana celular, o que em último caso resulta em lise celular. A maioria da actividade da fosfolipase foi detectada na ponta das hifas durante a invasão tecidular (Siqueira, Sen 2004). Estas enzimas provocam o desenvolvimento de anticorpos neutralizadores, representando estes uma barreira da defesa do hospedeiro (López-Ribot, 2004).

As SAP9 e SAP10 colaboram na aderência, dano tecidular e evasão da resposta imune do hospedeiro. Estas duas SAPs estão ligadas à membrana via âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI), enquanto que as outras oito (SAP 1-8) são secretadas para o espaço extracelular. Tem sido proposto que as SAPs produzidas pela *C.albicans* digerem a superfície das células epiteliais e assim providenciam uma porta de entrada na célula (Sardi e cols., 2010).

4.4. Transição morfológica

A *C.albicans* é de facto um fungo polimórfico tendo já sido relatado o seu crescimento em várias formas tais como blastosporos, tubos germinativos, verdadeiras hifas, pseudohifas, e clamidosporos, dependendo das condições ambientais. À excepção da forma de clamidosporo, a conversão para cada uma das formas pode ocorrer. As propriedades do crescimento de hifas poderão conferir a capacidade de invadir os tecidos do hospedeiro e escapar à fagocitose pelos macrófagos. Contudo, embora a transformação

das leveduras em hifas seja importante, não é um pré-requisito para a infecção ocorrer. De facto, muitas das infecções causadas por *C.albicans* têm na sua constituição ambas as formas morfológicas, sugerindo que ambas têm um papel no desenvolvimento e progressão da doença. Esta hipótese é apoiada pelo facto de que as células fúngicas têm várias proteínas que estão envolvidas no reconhecimento das células do hospedeiro (Siqueira, Sen 2004). As mudanças reversíveis nas características fenotípicas das células também contribuem para a aderência, pois permitem ao fungo adaptar-se às mudanças ambientais. Ou seja, quando ocorre alteração no equilíbrio do meio oral, pode haver mudança na expressão de moléculas de superfície das *Candida spp.*, favorecendo a sua aderência na mucosa oral e consequente infecção (Cannon e cols., 1995). Os genes da adesão são activados por diversos factores, tais como: privação de carbono e/ou nitrogénio, mudanças de pH ou alterações nos níveis de etanol.

4.5. Formação de biofilme

A *C.albicans* tem a capacidade de formar biofilmes em diferentes superfícies, e esta propriedade poderá ser uma das razões devida à qual esta espécie é considerada mais patogénica do que outras espécies que têm menor capacidade de formar biofilmes, tais como a *C.glabrata*, *C.tropicalis*, e *C.parapsilosis* (Haynes, 2001). De acordo com Donlan e Costerton (2002), um biofilme pode ser definido como uma comunidade de microorganismos ligados irreversivelmente a uma superfície, contendo uma matriz exopolimérica e exibindo propriedades fenotípicas distintas. Para além de favorecer o estabelecimento a um determinado local, a formação de biofilme poderá fornecer a comunidade de outras vantagens, tais como protecção contra potenciais ameaças. As células em biofilmes podem também ser mais resistentes a agentes antimicrobianos. As células de *C.albicans* que crescem em biofilme podem ter uma resistência mais de cem vezes superior ao antifúngico fluconazol e 20 a 30 vezes ou mais resistentes ao antifúngico anfotericina B do que células planctónicas (Kumamoto, 2002; Siqueira, Sen, 2004).

A adesão inicial das células de *Candida* é iniciada por factores inespecíficos (hidrofobicidade da superfície celular e forças electrostáticas) e por adesinas específicas da superfície do fungo que reconhecem ligandos, tais como proteínas séricas (fibrinogénio e fibronectina) e factores salivares. Adicionalmente, as células da *Candida* podem-se co-

agregar e/ou ligar a bactérias já colonizadas. A ligação inicial das células individuais ao substrato é seguida de divisão celular, proliferação e desenvolvimento do biofilme. Os biofilmes maduros de *Candida*, exibem uma estrutura tridimensional complexa e uma extensa heterogeneidade espacial, com as típicas microcolónias/canais de água, estando dentro de um material exopolimérico, similarmente ao que é relatado para os biofilmes bacterianos. Esta complexa estrutura representa um óptimo arranjo espacial para o influxo de nutrientes, eliminação de resíduos e desenvolvimento de micro nichos ao longo do biofilme de microcolónias e canais de água ramificados. O mecanismo de *quorum sensing* parece ter um importante papel na formação de biofilme rico em *Candida* (Ramage e cols., 2006). A heterogeneidade dentro das cadeias de *C.albicans* subgengivais isoladas, resulta não apenas da propagação dos microorganismos de *Candida*, mas também de novas cadeias em adaptação às bolsas subgengivais e do desenvolvimento de diferentes propriedades de virulência (Sardi e cols., 2010).

Como acontece também em biofilmes bacterianos, a *C.albicans* cresce mais rapidamente e alcança maiores concentrações em ambientes com mecanismos de *clearance* menos efectivos e melhor suprimento nutricional (Cannon, Chaffin, 1999).

4.6. Evasão e imunomodulação das defesas do hospedeiro

A *C.albicans* tem a capacidade de modular a resposta imune do hospedeiro, o que apresenta implicações directas para a patogénese (Chaffin e cols., 1998). Os constituintes da parede celular, tais como o glucano, a quitina e as manoproteínas, têm efeitos imunomoduladores (activação ou depressão). Quer as misturas de carboidratos quer as de proteínas têm a capacidade de despoletar respostas imunes (López-Ribbot e cols., 2004). Os polímeros de manose e as manoproteínas exibem a mais potente actividade imunomodulatória, sendo capazes de regular a acção de todos os constituintes do sistema imune (células natural killer, células fagocíticas, células de imunidade mediada e mecanismos humorais) (Chaffin e cols., 1998).

Os leucócitos polimorfonucleares (PMN) representam a primeira linha de defesa no controlo das infecções por *Candida*. Foi demonstrado que a *C.albicans* bloqueia as funções dos PMNs, tais como a produção de radicais de oxigénio e a desgranulação, para além de matar monócitos. *Candida spp.* podem invadir também as moléculas de defesa do

hospedeiro através da produção de proteases que degradam factores do complemento e imunoglobulinas IgG1, IgA1 e IgA2 (Siqueira, Sen, 2004).

Demonstrou-se que a *C.albicans*, é capaz de estimular a síntese de citocinas pró-inflamatórias e a sua libertação pelos macrófagos, células endoteliais e fibroblastos (Siqueira, Sen, 2004).

5. Factores de risco para o desenvolvimento de *Candida spp.* na mucosa oral

A *C.albicans*, como já referido, é geralmente um fungo comensal, existente em grande parte da população. Conforme evidenciado pela sua frequência na população, tem patogenicidade fraca, reflectindo assim a necessidade de factores predisponentes locais e sistémicos (Regezi e cols., 2000).

Os indivíduos com um sistema imune normal têm uma elevada resistência natural para a maioria das infecções fúngicas. Para além de uma panóplia de mecanismos inatos de defesa, os dois principais mecanismos imunes que permitem uma maior resistência à infecção fúngica são a fagocitose por neutrófilos (com ou sem o auxílio de opsoninas) e o desenvolvimento de imunidade mediada por células. São estes mecanismos que permitem que os fungos se mantenham na microflora como comensais e que os restantes, de fontes exógenas, sejam eliminados mais cedo ou mais tarde. No entanto, alguns fungos têm estratégias para evitar os mecanismos de defesa do hospedeiro, o que juntamente com factores do hospedeiro podem diminuir a capacidade imune do indivíduo para resistir a infecções fúngicas. Estes factores predisponentes podem ser locais, como sistémicos. (Farah e cols., 2000).

5.1. Factores de risco locais

Jorge e colaboradores (1997), desenvolveram um estudo em que avaliou 1063 indivíduos, divididos em dois grupos, um de controlo e outro com diferentes factores de risco para a infecção por *Candida*, nomeadamente o uso de prótese total, prótese parcial removível, respiração oral, aparelho ortodôntico fixo, aparelho ortodôntico removível e aparelho extra-oral. Os resultados mostraram maior percentagem de pacientes positivos para *Candida* nos grupos com estes factores em relação aos controlos.

Apesar dos casos de isolamento de *Candida* em pacientes com prótese total, não se encontrou evidência de correlação estatística entre esse número e a presença de estomatite protética, corroborando com a ideia de que a candidíase não ocorre apenas devido à presença do microorganismo mas também devido a factores sistémicos do hospedeiro (Jorge e cols., 1997). No entanto, as próteses predispõem a infecção por *Candida* pois produzem um microambiente com pouco oxigénio e baixo pH condutor ao seu

desenvolvimento. Esta sua proliferação também poderá ser devida à boa capacidade de adesão da *Candida* ao acrílico, ao reduzido fluxo salivar sob as superfícies da prótese, e má higiene oral (Akpan, Morgan, 2002).

A xerostomia é um factor de risco local pois a diminuição de secreção de saliva conduz a uma menor diluição dos microorganismos e sua menor remoção. Além disso as proteínas antimicrobianas presentes na saliva, tais como a lactoferrina, a sialoperoxidase, a lisozima, os polipéptidos ricos em histidina e anticorpos específicos *anti-Candida* interagem com a mucosa e previnem o desenvolvimento de *Candida* (Akpan, Morgan, 2002).

Os respiradores orais apresentam alterações no meio oral, o que pode levar ao aumento da presença de microorganismos e da susceptibilidade a infecções.

Uma dieta rica em carboidratos solúveis também favorece a adesão das cadeias de *C.albicans* às células epiteliais (Samaranayake, Macfarlane, 1982). Isto possivelmente deve-se ao facto dos carboidratos serem um substrato metabólico, estimulando assim o crescimento do fungo e aumentando a capacidade de aderência da *Candida* (Samaranayake, 1986; Akpan, Morgan, 2002).

5.2. Factores de risco sistémicos

Os factores de risco sistémicos que comprometem a resposta do hospedeiro ao desenvolvimento de *Candida spp.* incluem o vírus da imunodeficiência humana (VIH), o cancro, a leucemia, a anemia aplásica, diabetes mellitus, antibioticoterapia e tratamentos citotóxicos (Canabarro e cols., 2009; Sardi e cols., 2010). Todas estas situações comprometem o sistema imunitário do doente. Microorganismos que em pacientes imunocompetentes têm pouco ou nenhum significado, em indivíduos imunossuprimidos provocam infecções (Saraiva e cols., 2006).

As infecções por *Candida* são das infecções oportunistas mais comuns em indivíduos com o VIH. Um estudo demonstrou que a prevalência de *Candida spp.* em locais subgingivais foi de 42,3% em crianças VIH positivas e 7,1% em controlos individuais (Portela e cols., 2004). Feller e Lemmer (2008) observaram uma prevalência maior de *Candida spp.* na cavidade oral de pacientes VIH positivos, especificamente no biofilme subgingival, embora a prevalência da doença periodontal nestes indivíduos seja

muito semelhante à prevalência existente nos indivíduos VIH negativos. Estes autores, relataram ainda que espécies de *Candida* e o VIH têm a capacidade de desregular as respostas imunes e adaptativas do hospedeiro e estimulam as reacções inflamatórias do hospedeiro (Feller, Lemmer, 2008). A incapacidade dos indivíduos VIH positivos possuírem adequados PMN poderá permitir a colonização por *Candida* no ambiente subgengival. Neste meio, as *Candida spp.* poderão agir directamente ou combinadas com patogéneos bacterianos, ou ainda como cofactores (através da indução de produção de citocinas pro-inflamatórias) para aumentar a ocorrência de perda de inserção periodontal (Lamster e cols., 1998).

O recurso a antibioticoterapia, factor que leva a alteração da flora oral local, reduz o número de bactérias orais, e é por isso um factor de risco pois há menor competição entre os microorganismos (Cannon, Chaffin 1999). A utilização de antibacterianos de amplo espectro como auxiliar no tratamento periodontal tem sido um dos mais relevantes factores para o desenvolvimento de superinfecções por bactérias resistentes e por fungos do género *Candida*, inclusive em pacientes portadores do VIH, que além de terem a sua imunidade comprometida, são submetidos a tratamentos prolongados com antibacterianos para tratar ou prevenir infecções bacterianas (Martins e cols., 2002).

O uso de medicamentos como esteróides inalatórios, também aumenta o risco de proliferação de *Candida spp.*, possivelmente pela supressão da imunidade celular e da fagocitose (Apkan, Morgan, 2002).

Saraiva e colaboradores (2006) relataram que pacientes que realizaram transplante renal e que receberam drogas imunossupressivas apresentaram maior inflamação periodontal do que sujeitos imunocompetentes. Medicamentos como corticosteróides, azatiopina e ciclosporina, que são usados para prevenir a rejeição de órgãos transplantados, podem alterar o sistema imune e modificar as características do biofilme dentário, e assim alterar os seus efeitos nos tecidos periodontais. Os mesmos autores detectaram elevadas concentrações de *C.albicans* nas bolsas periodontais de pacientes com infecção periodontal aguda depois de serem submetidos a quimioterapia. Sendo que algumas destas espécies estavam combinadas com *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Uma concentração elevada de glucose poderá contribuir, directa ou indirectamente, para aumentar a actividade da hemolisina entre as cadeias de *C.albicans* isoladas nos pacientes diabéticos (Sardi e cols., 2010). Esta secreção de hemolisina, seguida da aquisição de ferro, facilita a invasão pelas hifas na candidíase oral.

Condições de Síndrome de Sjogren's, radioterapia da cabeça e do pescoço e toma de medicação, que reduzem a secreção salivar podem levar a um risco aumentado do desenvolvimento de *Candida spp.* pois apresentam uma menor diluição dos microorganismos e sua menor remoção (Apkan, Morgan, 2002).

6. O papel de *Candida spp.* no desenvolvimento da doença periodontal

A progressão da doença periodontal depende da ocorrência simultânea de vários factores. O hospedeiro deve ser susceptível sistemicamente e apresentar também factores locais. O meio local deve conter espécies bacterianas que acentuam a infecção ou que pelo menos não inibam a sua actividade patogénica. O meio ambiente também deve contribuir para a expressão dos factores de virulência pelos patógenos. Isso pode ocorrer pela regulação da expressão do factor de virulência, ou induzir o microorganismo para que ele manifeste propriedades que levam ao dano tecidual. O(s) patógeno(s) deve(m) atingir números suficientes para iniciar ou causar a progressão da infecção num determinado indivíduo e meio ambiente (Lindhe e cols., 2005).

Um dos factores associados ao desenvolvimento da doença periodontal é a placa dentária. Esta actua como um biofilme e a sua formação inicial tem início com a deposição da película salivar na superfície dentária. Células planctónicas aderem a esta película através de interacções físico-químicas não-específicas e através de adesinas especializadas na superfície celular bacteriana que reconhece as proteínas da película. Este fenómeno resulta numa acumulação de depósitos bacterianos compostos por colonizadores iniciais como *Actinomyces spp.*, *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* e *Candida spp.* A maturação do biofilme processa-se via co-agregação de bactérias planctónicas ao já aderido biofilme, ocorrendo crescimento bacteriano. Após três semanas, se a placa supragengival não for perturbada inicia-se a formação de placa subgengival. Na presença de *F.nucleatum*, bactérias anaeróbias formam sinergicamente robustos biofilmes via contactos célula-célula (Zijge e cols., 2010).

O isolamento de *Candida* do sulco gengival também se apresenta aumentado em pacientes com doença periodontal (Jorge e cols., 1997). González e colaboradores (1987) demonstraram, com a utilização de microscópio electrónico de varredura, a presença de fungos a invadir o tecido conjuntivo gengival. Os autores demonstraram ainda que, nos pacientes tratados com antibióticos, o número de fungos estava aumentado.

Foram realizadas algumas pesquisas com o objectivo de detectar *Candida spp.* em bolsas periodontais, com ênfase na espécie *C.albicans*, de modo a verificar a capacidade destas espécies sobreviverem nestes microambientes e também com o objectivo de

esclarecer o seu papel na patogénese da doença periodontal. Apesar desta doença ser causada por diversas espécies de bactérias anaeróbias gram-negativas, a *C.albicans* foi isolada em 20% das bolsas periodontais dos pacientes com periodontite. Este estudo avaliou a possível correlação entre o isolamento subgengival de *C.albicans* e a ocorrência de determinadas espécies periodontopatogénicas, observando que a *Pg* foi menos frequentemente isolada em amostras positivas para *C.albicans*; ao contrário, a proporção média de *Aa* em relação à microbiota total era maior nos indivíduos positivos do que naqueles em que tais fungos não foram encontrados nas bolsas periodontais (Reynaud e cols., 2001).

Outros autores (Dahlén, Wikström 1995; Papapanou, 2002) relataram que o facto da proporção de fungos nas bolsas periodontais ser semelhante à de alguns periodontopatogénicos bacterianos, reforça a hipótese de uma possível acção de *Candida spp.* na patogénese da doença periodontal. A participação dos fungos na patogénese desta doença tem sido considerada devido à capacidade destes microorganismos aderirem a células epiteliais *in vitro* e penetrarem nos tecidos epitelial e conjuntivo e, deste modo provocarem uma reacção inflamatória (Canabarro e cols., 2009). Poderão também influenciar o processo inflamatório, uma vez que possuem vários factores de virulência, como relatado anteriormente, pelos quais invadem tecidos e modulam os mecanismos de defesa do hospedeiro, facilitando por isso a proliferação e libertação de exoenzimas que promovem a degradação dos tecidos (Sardi e cols., 2010). Martins e colaboradores (2002), relataram que algumas cadeias de *C.albicans* isoladas de bolsas periodontais apresentavam forte actividade fosfolipásica e proteinásica, acreditando por isso que a produção destas enzimas pelos fungos pode agir como factor de patogenicidade na doença periodontal dado que as fosfolipases são enzimas que degradam fosfolípidos associados às membranas celulares do hospedeiro, o que leva a uma disfunção ou interrupção das suas actividades. As proteinases têm um papel relevante na virulência deste fungo uma vez que parecem promover a degradação de colagénio e de fibronectina resultando na destruição da matriz extracelular e da membrana basal (Järvensivu e cols., 2004; Canabarro e cols., 2009). Martins e colaboradores (2002) salientaram que a identificação de factores de virulência, como a capacidade de invadir o epitélio do sulco, inibição de função dos PMN, lise de monócitos, presença de endotoxinas e a produção de enzimas por microorganismos

presentes no sulco gengival, é um dos factores observado para se considerar um microorganismo como possivelmente envolvido na doença periodontal. Além disso, os fungos são mais resistentes, ou menos susceptíveis, às defesas do hospedeiro (respostas inata e adaptativa) e, desta forma podem perpetuar o processo inflamatório, ainda que, em alguns casos, tenha sido detectado um infiltrado inflamatório mínimo adjacente às hifas (Järvensivu e cols., 2004; Canabarro e cols., 2009).

Rosa e colaboradores (2008), mostraram que cadeias periodontais de *C.albicans* aumentam a produção de determinadas enzimas hidrolíticas sob condições de anaerobiose, o que indica que a baixa concentração de oxigénio existente nas bolsas periodontais exerce influência na virulência atribuída à *C.albicans*. Noutro estudo, desenvolvido por Kurnatowska (1998), as cadeias de *C.albicans* isoladas da cavidade oral de pacientes com doenças do periodonto foram caracterizadas pela elevada actividade de fosfatase ácida.

Urzúa e colaboradores (2008) usaram métodos que analisaram o genótipo e o fenótipo para analisarem a composição da microbiota fúngica na mucosa e locais subgengivais de indivíduos saudáveis e em pacientes com periodontite agressiva e crónica. Embora o perfil das espécies presentes na mucosa dos três grupos tenha variado, estes investigadores relataram que apenas a *C.albicans* e a *C.dubliniensis* foram capazes de colonizar as bolsas periodontais em pacientes com periodontite crónica, e apenas a *C.albicans* foi identificada nas bolsas subgengivais de indivíduos saudáveis e pacientes com periodontite agressiva. Foi igualmente relatado que a proporção de fungos nas bolsas periodontais é semelhante à proporção de patogéneos bacterianos.

Os fungos do género *Candida* foram isolados da saliva em maior número de pacientes com periodontite crónica (50%) em relação aos indivíduos com periodonto saudável (20%), com diferença estatisticamente significativa (Jorge, 1997). Os níveis de imunoglobulinas *anti-Candida*, IgG e IgM no fluido do sulco gengival estavam em quantidades também elevadas nos pacientes com periodontite, em relação aos indivíduos com periodonto saudável. Estes resultados sugerem uma resposta imune humoral do organismo dos pacientes com periodontite crónica aos fungos do género *Candida* (Jorge, 1997).

Relatórios microbiológicos de periodontites apicais relataram a presença de fungos de aproximadamente 5-20% dos canais radiculares infectados. Estes ocorrem em culturas

puras ou juntamente com bactérias. Quase todos os fungos pertenciam ao género *Candida* e a espécie predominante foi a *C.albicans*. Os seus vários factores de virulência foram capazes de infectar o complexo dentina-polpa, incluindo os túbulos dentinários. Em consequência disto desenvolveu-se uma resposta inflamatória em volta do ápex radicular, o que sugere um papel patogénico deste organismo também na periodontite apical. Os fungos estão particularmente associados com infecções canulares persistentes que não respondem favoravelmente ao tratamento conservador endodôntico. Este facto poderá ser devido à resistência de todas as *Candida spp.* contra o medicamento frequentemente usado, o hidróxido de cálcio (Waltimo e cols., 2003).

Efectuaram-se outros estudos com o objectivo de detectar *Candida spp.* em bolsas periodontais em pacientes que possuem factores de risco para candidíase oral. Portela e colaboradores (2004) e Feller e Lemmer (2008) relataram aumento na prevalência de *Candida spp.* na cavidade oral de pacientes HIV positivos, especificamente no biofilme subgingival. Nos pacientes diabéticos, Sardi e colaboradores (2008) encontraram quatro espécies de *Candida*, sendo a *C.dubliniensis* e a *C.albicans* as mais prevalentes nos sítios periodontais, além de *C.glabrata* e *C.krusei*. Martins e colaboradores (2002) não observaram nenhuma correlação entre profundidade de bolsa periodontal e o isolamento de *Candida spp.*

Assim, a *C.albicans* tem sido relatada em diferentes manifestações da doença periodontal, incluindo a periodontite agressiva (Hägewald e cols., 2002), a periodontite crónica (Sardi e cols., 2008), locais refractários ao tratamento periodontal (Listgarten e cols., 1993), bolsas periodontais de fumadores (Kamma e cols., 1999) e diabéticos (Sardi e cols., 2008) e algumas gengivites severas, em paciente medicamente comprometidos (Dahlén, 1993).

7. O papel de *Candida spp.* no desenvolvimento da peri-implantite

A adesão de microorganismos orais e consequente formação de biofilmes patogênicos na superfície de implantes dentários resulta em infecções dos tecidos peri-implantares e em último caso em falha do implante.

Os implantes dentários são colonizados por microorganismos específicos, incluindo *Candida spp.*, que geralmente se organizam em biofilmes patogênicos. Estes biofilmes microbianos (bactérias ou fungos) têm uma resistência aumentada às defesas do hospedeiro e às terapias convencionais, resultando frequentemente em infecções persistentes (Bürgers e cols., 2010).

As bactérias desempenham um papel importante na etiologia da peri-implantite (Lindhe e cols., 2005) mas para além dos patogêneos periodontais putativos, a *C.albicans* tem sido detectada como uma espécie oportunista nas lesões peri-implantares. As superfícies dos implantes dentários podem conter o substrato necessário para a formação de biofilme com fungos e por isso poderão ser consideradas como um reservatório potencial de (re) infecção com *C.albicans* (Bürgers e cols., 2010).

Alcoforado e colaboradores (1991) observaram a microbiota subgengival de implantes dentários que falharam a osteointegração. Foi examinada a presença de periodontopatogêneos no sulco ao redor de 18 implantes. Foram encontrados *Streptococcus* em seis sulcos de implantes com insucesso, *Wolinella recta* em seis, espécies de *Fusobacterium* em cinco, *C.albicans* em cinco, *Bacteroides intermedius* em quatro e Bastonetes e *Pseudomonas* constituíram parte significativa da microbiota de cinco implantes. O estudo demonstrou existir uma microbiota complexa, incluindo bactérias e fungos em associação com a peri-implantite.

No geral, as células fúngicas têm um elevado potencial para aderir a materiais artificiais, do mesmo modo que têm para os tecidos orais. As propriedades da superfície dos materiais, tais como a rugosidade superficial, a energia livre de superfície e propriedades químicas, influenciam significativamente a quantidade e a qualidade da adesão fúngica (Bürgers e cols., 2010).

Uma rugosidade superficial aumentada é conhecida por resultar numa osteointegração mais firme e rápida entre o implante e o osso envolvente. Por outro lado,

também tem sido demonstrado que a rugosidade e a textura da superfície do implante dentário melhoram a colonização das bactérias e fungos (Bürgers e cols., 2010).

Quando um implante é exposto na cavidade oral, é imediatamente coberto por uma película de saliva, a qual por sua vez também influencia o processo de adesão dos fungos ao substrato. No entanto, existe uma evidência contraditória em relação a se essa película de saliva reduz ou melhora a adesão da *C.albicans*, estando o conhecimento sobre o papel das proteínas salivares específicas como receptores para a adesão fúngica, muito pouco desenvolvido. Apesar disto, Bürgers e colaboradores (2010), conduziram um estudo em que constataram a relevância da película de saliva e seus constituintes para a adesão inicial fúngica. Concluindo que a mucina poderá servir como receptor para a adesão da *C.albicans*, enquanto a albumina poderá agir como agente bloqueante no processo complexo da adesão da *C.albicans*.

Relativamente às superfícies, as de Titânio (Ti) podem ser facilmente colonizadas por biofilmes orais de *S.mutans* e *C.albicans*, considerando que a concentração relatada destes microorganismos nestas superfícies foi significativamente alta. Adicionalmente o pH do meio no qual os biofilmes cresceram diminui na presença dos microorganismos, provavelmente devido à liberação de substâncias acídicas que reduzem a resistência à corrosão do Ti. O processo que acontece durante o deslizamento das peças de Ti num ambiente corrosivo pode causar a falha nos sistemas suportados de implantes dentários (Souza e cols., 2010).

Os implantes de Zircônia têm sido vistos como uma alternativa aos implantes de Ti monolítico convencionais, devido principalmente à sua reduzida propensão de aderência para os microorganismos (Bürgers e cols., 2010).

8. Discussão

A prevalência de *C.albicans* na cavidade oral é de 30-45% em adultos saudáveis, 50-65% de indivíduos que utilizam prótese removível, 90% de paciente com leucemia aguda e submetidos a quimioterapia e 95% dos pacientes com VIH (Apkan, Morgan, 2002).

A *C.albicans* é considerada a espécie fúngica mais virulenta e adaptada à cavidade oral (Calderone, Fonzi, 2001). Os seus diversos factores de virulência, discutidos a seguir, apontam para algum provável papel na patogénese das doenças periodontais.

A capacidade de resposta a alterações ambientais é um factor muito relevante. Esta capacidade de adaptação pode ser explicada pelo mecanismo de *quorum sensing*, que pode ser definido como um sistema complexo de comunicação intercelular por meio de sinalização molecular. A sinalização ocorre em situações de alterações ambientais, tais como diferença de pH, temperatura, disponibilidade de nutrientes, entre outros. Este fenómeno ocorre porque as espécies de *Candida* possuem sistemas que permitem a sua adaptação em resposta a estas alterações ambientais (Whitehead e cols., 2001). A bolsa periodontal e o fluido crevicular são ambientes favoráveis para germinação e crescimento de hifas de *Candida spp.*, as quais, como explicado anteriormente, têm maior capacidade de penetrar nos tecidos e aderir à superfície epitelial do hospedeiro, em comparação com a forma de levedura (Järvensivu e cols., 2004). Pizzo e colaboradores (2002) sugeriram que a heterogeneidade de cadeias de *Candida* na bolsa subgengival não é apenas resultado da sua presença na saliva ou no biofilme, mas também da sua capacidade de adaptação à bolsa, desenvolvendo diferentes propriedades de virulência para a sua sobrevivência em ambientes hostis.

Por outro lado, a *C.albicans* apresenta também a capacidade de adesão às células do hospedeiro. A adesão de microorganismos às superfícies mucosas do hospedeiro é pré-requisito para a colonização e subsequente estabelecimento da infecção nos tecidos mucosos (Samaranayake, Mac Farlane, 1982), evitando a sua remoção pela acção mecânica da saliva (Sundstron, 1999). Deste modo, a adesão é importante para a persistência e disseminação infecciosa (Nikawa e cols., 2006). Alguns estudos (McCourtie, Douglas, 1981; Samaranayake, MacFarlane, 1982) observaram melhor adesão das células de *C.albicans* em superfícies acrílicas quando essas leveduras cresceram em meios

suplementados com maiores concentrações de galactose, sucrose, glucose ou maltose. Esta é uma observação relevante por se considerar que uma dieta rica em carboidratos pode predispor o indivíduo a infecção oral por *C.albicans*. Proteínas hidrofóbicas formadas pela *C. albicans* na matriz polissacarídica também aumentam a força dos receptores de adesão, contribuindo para a patogenicidade desta espécie. Quanto mais hidrofóbicas forem estas proteínas, mais aderentes às células do hospedeiro e aos componentes salivares, como mucina e matriz de proteínas extracelulares (Masuoka e cols., 1999).

A secreção de enzimas que degradam tecidos é outro factor relevante, existente na *C.albicans*. Este fungo pode expressar na superfície celular a secreção de proteases capazes de degradar a matriz extracelular e componentes da membrana basal do epitélio, como o colagénio e a fibronectina. Entre as importantes enzimas de *Candida spp.* que degradam tecidos estão as fosfolipases e as proteases aspartil secretadas (SAPs). Sete tipos de genes de fosfolipases (PLA, PLB1, PLB2, PLC1, PLC2, PLC3 e PLD1) e dez de SAPs (SAP1 a SAP10) têm sido identificados em *C.albicans* (Samaranayake e cols., 2006). Apesar do seu papel na patogénese da doença periodontal não ter sido esclarecido, sabe-se que as fosfolipases podem estar envolvidas na invasão tecidual por degradar fosfolípidos, causando lise na membrana da célula do hospedeiro (Samaranayake e cols., 2006).

A *C.albicans* tem também a capacidade de participar no biofilme dentário. O biofilme confere protecção contra os mecanismos de remoção pela saliva e dificulta a acção de antimicrobianos, além de servir como reservatório para libertação de organismos infectantes na cavidade oral. Deste modo, o biofilme que contém leveduras poderá estar implicado no desenvolvimento de cáries e na patogénese das doenças periodontais (Järvensivu e cols., 2004). A co-agregação a outros microorganismos orais também constitui um factor importante na progressão das doenças orais. A associação ocorre por meio da adesão de receptores de membrana, incluindo as manoproteínas da *C.albicans* (Masuoka, Hazen, 1997). As manoproteínas estão envolvidas no reconhecimento célula-célula e respostas aos factores de *stress*, merecendo destaque como potencial factor agressivo e principal alvo da resposta imune do hospedeiro, favorecendo a adesão do fungo à superfície da célula hospedeira.

Outro factor em discussão é a capacidade de invasão do tecido conjuntivo gengival da *Candida*. Quanto à interacção de *Candida spp.* com as células epiteliais, acredita-se que

a produção de hifas aumente o poder de aderência e de invasão tecidual, permitindo às leveduras o acesso a estruturas e órgãos na profundidade do corpo (Calderone, Fonzi, 2001). A forma de blastosporos também tem sido encontrada na superfície celular, bem como entre as células do hospedeiro (Park e cols., 2005). Järvensivu e colaboradores (2004) demonstraram a capacidade de invasão das hifas de *C. albicans* aos tecidos periodontais em tecidos acometidos por periodontite crônica e no biofilme subgengival *in vivo* por meio da técnica com anticorpos monoclonais. Além disso, estudos sugerem que as SAPs, produzidas pela *C. albicans*, são capazes de digerir a superfície da célula epitelial do hospedeiro, provocando lise e consequente invasão tecidual (Park e cols., 2005). As SAPs podem-se adaptar e envolver-se directamente em várias funções de virulência. Podem contribuir para a adesão e invasão do tecido hospedeiro, degradando as estruturas da superfície da célula e substâncias intercelulares ou destruindo células e moléculas do sistema imune como uma maneira de resistir ao ataque da resposta imune do hospedeiro (Hube, Naglik, 2001).

Outra característica da *C.albicans* é a sua capacidade de induzir reacções inflamatórias. Järvensivu e colaboradores (2004) detectaram *Candida spp.* em diversas camadas do biofilme subgengival, incluindo a presença de infiltrado inflamatório. Estes autores sugerem que *Candida spp.* podem conferir protecção aos microorganismos do biofilme diante dos mecanismos imunes do hospedeiro, auxiliando na resistência da microbiota subgengival, além de contribuir para a persistência da resposta inflamatória nos tecidos adjacentes. A *C.albicans* também tem papel na invasão do sistema imune, podendo provocar uma infecção periodontal com destruição tecidual (Järvensivu e cols., 2004).

Factores locais, como o uso de próteses e aparelhos ortodônticos, respiradores orais, devido a propiciarem um óptimo ambiente para a proliferação da *C.albicans* estão relacionados com uma maior prevalência deste fungo. Assim como a presença de determinadas patologias, como Diabetes Mellitus, SIDA, alguns síndromes xerostômicos (Sjögren, por exemplo) e pacientes transplantados estão relacionados com uma maior contagem de *Candida*. Dado que nestes pacientes as funções imunológicas estão diminuídas, tendo por isso menor capacidade de responder adequadamente à proliferação de *Candida spp.*.

Os tecidos peri-implantares apresentam características diferentes dos tecidos periodontais, apresentando uma menor irrigação, e tendo por isso maior risco de colonização fúngica. Vários autores concluíram que a microbiota presente na cavidade oral, previamente à colocação de implantes, vai determinar a qualidade da nova colonização em torno do implante e sua osteointegração (Alcoforado e cols., 1991; Mombelli e cols., 1995). Leonhardt e colaboradores (1999) observaram o sulco peri-implantar doente e com saúde, e dentro dos periodontopatogêneos encontrados, *Candida* foi encontrada em 10% dos indivíduos com peri-implantite. Reynaud e colaboradores (2001) ao estudarem a prevalência de leveduras em bolsas periodontais, encontraram 15% e 17,5% nos grupos observados. Deste modo, estes estudos indicam que a *Candida* está presente em sítios saudáveis e doentes tanto em doenças periodontais como em peri-implantite. De acordo com Papaioannou, Quirynen e Van Steenberghe (1996) é confirmada a hipótese de que os dentes agem como reservatórios de microrganismos para colonização dos implantes e da importância de se ter saúde periodontal previamente à colocação dos mesmos.

9. Conclusão

A prevalência de *Candida spp.*, principalmente de *C.albicans*, na bolsa periodontal, é sugestiva da sua co-participação na patogénese da doença periodontal. Principalmente devido a esta espécie apresentar vários factores de virulência que poderão influenciar o processo de infecção desta doença.

Existem factores de risco locais e sistémicos que influenciam a presença de fungos do género *Candida* na saliva e na doença periodontal (Jorge e cols., 1997). Sendo que os factores de virulência de *Candida spp.* associados à susceptibilidade do hospedeiro poderão desempenhar um papel importante nas alterações inflamatórias das doenças periodontais. É de frisar também a maior prevalência e papel destes microorganismos em indivíduos imunocomprometidos uma vez que *Candida spp.* apresentam a capacidade de desregular as respostas imunes adaptativas e inatas e estimulam as reacções inflamatórias do hospedeiro (Feller, Lemmer, 2008).

Apesar das evidências científicas da presença das espécies de *Candida* em bolsas periodontais, são necessários mais estudos para o esclarecimento do seu papel na doença periodontal (Slots e cols., 1988; Dahlén, Wikström 1995; Reynaud e cols., 2001; Järvensivu e cols., 2004; Canabarro e cols., 2009).

Ainda existe também pouca informação sobre a formação de *Candida* na superfície dos implantes dentários e sua possível relação no desenvolvimento de doença peri-implantar. Por estas razões são necessários mais ensaios clínicos, de elevada amostra, randomizada e controlada sobre o efeito dos fungos no desenvolvimento de doença nos tecidos peri-implantares.

Referências Bibliográficas

1. Alcoforado GA, Rams TE, Feik D, Slots J. Microbial aspects of failing osseointegrated dental implants in humans. *J Parodontol*. 1991 Feb; 10(1): 11-18.
2. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J* 2002; 78:455–459.
3. Bürgers R, Hahnel S, Reichert TE, Rosentritt M, Behr M, Gerlach T, Handel G, Gosau M. Adhesion of *Candida albicans* to various dental implant surfaces and the influence of salivary pellicle proteins. *Acta Biomaterialia* 6 (2010) 2307–2313.
4. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol* 2001; 9 327 35.
5. Canabarro A, Marques DVG, Coelho JC, Lazera M, Wanke B. Yeasts in chronic periodontitis: literature review. *Rev. Clín. Pesq. Odontol., Curitiba* 2009; v. 5, n. 2, p. 135-139, maio/ago.
6. Cannon RD, Chaffin WL. Oral Colonization by *Candida Albicans*. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; 10(3):359-383.
7. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC. Oral *Candida*: Clearance, Colonization, or Candidiasis. *J dent res* 1995; 74: 1152.
8. Chaffin WL, López-Ribot JL, Casanova M, Gozalbo D, Martinez JP. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62:130-80.

9. Dahlén G, Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. *Adv dent Res* 1993 7:163.

10. Dahlén G, Wikström M. Occurrence of enteric rods, staphylococci and *Candida* in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol* 1995; 10, 42-46.

11. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002;15: 167-93.

12. Farah, C. S.; Ashman, R. B. & Challacombe, S. J. (2000). Oral Candidosis. *Clinics in Dermatology*; 18: 553-562.

13. Feller L, Lemmer J. Necrotizing periodontal diseases in HIV-seropositive subjects: pathogenic mechanisms. *J Int Acad Periodontol* 2008; 10, 10-15.

14. González S, Lobos I, Guajardo A, Celis A, Zemelman R, Smith CT, Saglie FR (1987) Yeats in juvenile periodontitis. Preliminary observations by scanning electron microscopy. *J Periodontol* 58, 119-124.

15. Hägewald S, Bernimoulin JP, Köttgen E, Kage A. Salivary IgA subclasses and bacteria-reactive IgA in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontal Res.* 2002 Oct; 37 (5): 333-9.

16. Haynes K. Virulence in *Candida* species. *Trends Microbiol* 2001; 9:591-6.

17. Hube B, Naglik J. *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. *Microbiology* 2001; 147:1997-2005.

18. Järvensivu A, Hietanen J, Rautemaa R, Sorsa T, Richardson M. Candida yeasts in chronic periodontitis tissues and subgingival microbial biofilms in vivo. *Oral Dis* 2004; 10, 106-112.
19. Jorge AOC, Presença de Candida spp e anticorpos anti-candida albicans na cavidade bucal de pacientes com periodontite crônica do adulto. *Rev. Odontol. UNESP, São Paulo* 1997; 26(1) 203-218.
20. Jorge AOC, Koga-ito CY, Gonçalves CR, Fantinato V, Unterkircher CS, Presença de leveduras do gênero Candida na saliva de pacientes com diferentes factores predisponentes e de indivíduos controle. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1997; v. 11, n. 4, p. 279-85, out./dez.
21. Kamma JJ, Nakou M, Baehni PC. Clinical and microbiological characteristics of smokers with early onset periodontitis. *J Periodontal Res* 1999; 34(1):25-33.
22. Kumamoto CA. Candida biofilms. *Curr Opin Microbiol* 2002;5: 608-11.
23. Kurnatowska AJ. Activity of hydrolytic enzymes of Candida albicans strains isolated from patients with periodontal and membrane mucosae of oral cavity diseases. *Mycopathologia* 1998; 141: 105–109.
24. Lamster IB, Grbic JT, Mitchell-Lewis DA, Begg MD, Mitchell A. New concepts regarding the pathogenesis of periodontal disease in HIV infection. *Ann Periodontol.* 1998 Jul;3(1)62-75.
25. Leonhardt A, Renvert S, Dahlén G. Microbial findings at failing implants, *Clin Oral Impl Res.* 1999,v.10, p339-345.

26. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Tratado de periodontia clinica e implantologia oral. 2005, 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

27. Listgarten MA, Lai CH, Young V. Microbial composition and pattern and antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. J Periodontol 1993; v. 64, p. 155-161.

28. López-Ribot JL, Casanova M, Murgui A, Martines JP. Antibody response to *Candida albicans* cell wall antigens. FEMS Immunol Med Microbiol. 2004; Jul 1;41(3):187-96.

29. Martins CAP, Santos SSF, Loberto JCS, Koga-Ito CY, Jorge AOC. Presença *Candida* spp. em pacientes com periodontite crônica. Cienc Odontol Brás. 2002; 5(1):75-83.

30. Masuoka J, Hazen KC. Cell wall protein mannosylation determines *Candida albicans* cell surface hydrophobicity. Microbiology 1997; 143:3015-21.

31. Masuoka J, Wu G, Glee PM, Hazen KC. Inhibition of *Candida albicans* attachment to extracellular matrix by antibodies which recognize hydrophobic cell wall proteins. FEMS Immunol Med Microbiol 1999; 24:421-9.

32. McCourtie J, Douglas LJ. Relationship between cell surface composition of *Candida albicans* and adherence to acrylic after growth on different carbon sources. Infect Immun 1981; 32(3):1234-41.

33. Molero G, Díez-Orejas R, Navarro-García F, Monteoliva L, Pla J, Sánchez-Pérez M, Nombela C. *Candida albicans*: genetics, dimorphism and pathogenicity. Internat Microbiol, v. 1, p. 95-106, 199.

34. Mombelli A, Marxer M, Gaberthuel t, Grunder U, Lang NP. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1995 Feb 22(2) 124-30.
35. Nikawa H, Egusa H, Makihira S, Okamoto T, Kurihara H, Shiba H, et al. An in vitro evaluation of the adhesion of *Candida* species to oral and lung tissue cells. *Mycoses* 2006; 49:14-7.
36. Papaioannou W, Quirynem M, Van Steenberghe D. The influence of periodontitis on the subgingival flora around implants in partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res*. 1996 Dec; 7(4): 405-9.
37. Papapanou PN. Population studies of microbial ecology in periodontal health and disease. *Ann Periodontol* 2002; 7, 54-61.
38. Pizzo G, Barchiesi F, Falconi Di Francesco L, Giuliana G, Arzeni D, Milici ME, et al. Genotyping and antifungal susceptibility of human subgingival *Candida albicans* isolates. *Arch Oral Biol* 2002; 47:189-96.
39. Portela MB, Souza IP, Costa EM, Hagler AN, Soares RM, Santos AL. Differential recovery of *Candida* species from subgingival sites in human immunodeficiency virus-positive and healthy children from Rio de Janeiro, Brazil. *J Clin Microbiol* 2004; 42, 5925-5927.
40. Ramage G, Martínez JP, López-Ribot JL. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *Yeast Res* 2006; 6, 979–986.
41. Reynaud AH, Nygaard-Østby B, Bøygard GK, Eribe ER, Olsen I, Gjermo P. Yeasts in periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 2001; 28, 860-864.

42. Rosa EA, Rached RN, Ignácio SA, Rosa RT, José da Silva W, Yau JY, et al. Phenotypic evaluation of the effect of anaerobiosis on some virulence attributes of *Candida albicans*. J Med Microbiol. 2008;57(Pt 10):1277-81.

43. Samaranayake LP. Nutritional factors and oral candidosis. J Oral Pathol 1986; v. 15, n. 2, p.61-5.

44. Samaranayake LP, Macfarlane TW. The effect of dietary carbohydrates on the in-vitro adhesion of *Candida albicans* to epithelial cells. J Med Microbiol, 1982; v15 511-517.

45. Samaranayake YH, Dassanayake RS, Cheung BP, Jayatilake JA, Yeung KW, Yau JY, et al. Differential phospholipase gene expression by *C. albicans* in artificial media and cultured human oral epithelium. APMIS 2006; 114:857-66.

46. Saraiva L, Lotufo RF, Pustiglioni AN, Silva HT Jr, Imbronito AV. Evaluation of subgingival bacterial plaque and effects on periodontal tissues in patients with renal transplants under immunosuppressive therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006; 101, 457-462.

47. Sardi JCO, Cruz GA, Saito D, Hofling JF, Duque C, Gonçalves RB. Identificação de espécies de *Candida* por PCR em bolsas periodontais de pacientes diabéticos com periodontite crônica. In: 1º Simpósio Internacional de Microbiologia Clínica, 2008, Gramado - RS.

48. Sardi JCO, Duque C, Mariano FS, Peixoto ITA, Höfling JF, , Gonçalves RB *Candida* spp. In periodontal disease: a brief review. Journal of oral science 2010, Vol.52, No.2, 1777-185.

49. Sciubba JJ; Regezi, JA. Patologia Bucal: Correlações Clinicopatológicas. 2000; 3 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro.

50. Seneviratne, C. J.; Jin, L. & Samaranayake, L. P. (2008). Biofilm lifestyle of *Candida*: a mini review. *Oral Diseases*; 14: 582-590.

51. Siqueira JF, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97:632-41.

52. Slots J, Rams TE, Listgarten MA. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1988; 3, 47-52.

53. Souza JCM, Henriques M, Oliveira R, Teughels W, Celis JP, Rocha LA. Do oral biofilms influence the wear and corrosion behavior of titanium?. *RepositoriUM*, 2010.

54. Sundstron P. Adhesins in *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2:353-7.

55. Urzúa B, Hermosilla G, Gamonal J, Morales.Bozo I, Canals M, Barahona S, Cóccola C, Cifuentes V (2008) Yeast diversity in the oral microbiota of subjects with periodontitis: *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* colonize the periodontal pockets. *Med Mycol* 46, 783-793.

56. Waltimo TMT, Sen BH, Meurman JH, Ørstavik D, Haapasalo MPP. Yeasts in apical periodontitis. *CROBM* 2003 14: 128.

57. Whitehead NA, Barnard AM, Slater H, Simpson NJ, Salmond GP. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2001; 25(4):365-404.

58. Zijge V, Leeuwen MBMV, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R, Harmsen JM. Oral Biofilm Architecture on Natural Teeth. PLoS ONE 2010 5(2): e9321.

Apêndices/ Anexos

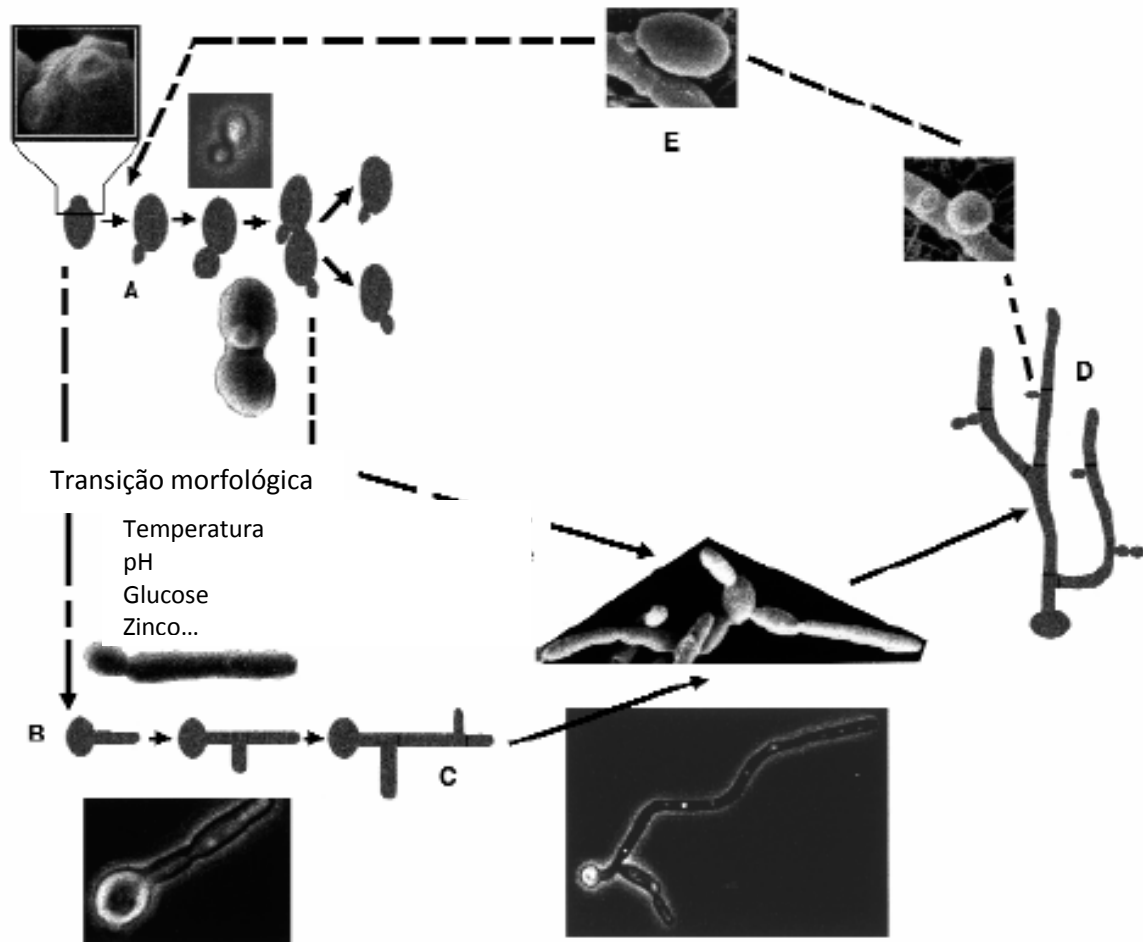


Figura 1 - Dimorfismo na *C.albicans*. (A) Blastosporos; (B) Tubos germinativos; (C) Formação de hifas a partir do crescimento apical de tubos germinativos; (D) Micélios; (E) Blastosporos secundários separados dos filamentos (Molero e cols., 1998).

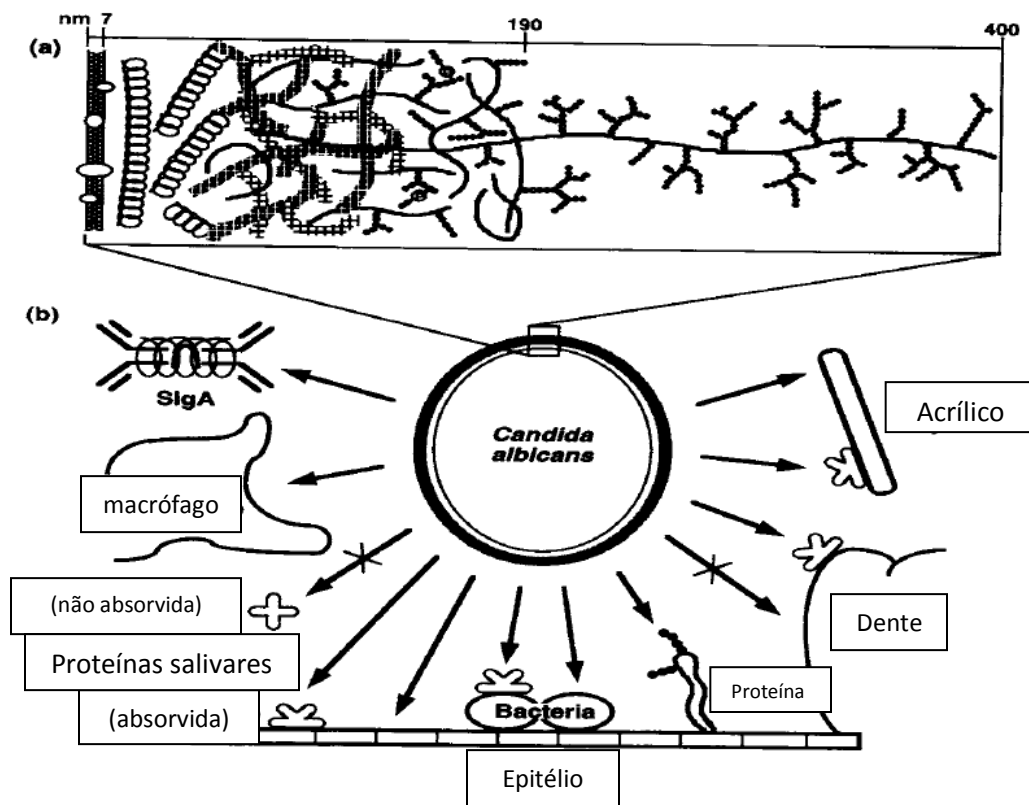


Figura 2: Interações moleculares entre a parede celular da *C.albicans* e as superfícies orais. (a) Representação esquemática da arquitetura e composição da parede celular da *C.albicans*: quitina; $\beta(1,3)$ -glucano; $\beta(1,6)$ -glucano; manoproteína; ligação fosfodiéster; membrana plasmática. (b) Interações da *C.albicans* com moléculas e superfícies na cavidade oral que contribuem para a colonização (Cannon, Chaffin, 1999).